

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACION

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

**EFFECTOS DE LOS IONES SOBRE LOS ANTIBIOTICOS:
ESTREPTOMICINA, ACROMICINA, SINTOMICETINA Y
TERRANICINA Y SU POSTERIOR APLICACION A LOS
HEMOCULTIVOS.**

**Tesis presentada para optar al grado de Doctor
en Ciencias Químicas, orientación Biológica, por:**

GRACIELA ALVA

1956

-000-

Señor Decano Interventor,

Señores Profesores,

Tengo el honor de presentar a Uds. el presente trabajo de tesis, dando en esta forma cumplimiento al último requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas, Orientación Biológica.

Deseo expresar mi reconocimiento al Doctor Virgilio Oliva quién dirigió este trabajo de tesis, actuando como padrino del mismo, y el cual fué realizado en la cátedra de Análisis Biotécnicos; siendo la parte de los hemocultivos realizada en el Instituto Malbrán por razones de comodidad en la obtención del material.

Mi más profundo agradecimiento al Doctor Ricardo A. Margni cuya ayuda e inteligente orientación he encontrado en todo momento y sin las cuales no hubiera podido realizar este trabajo.

A si mismo quiero manifestar mi agradecimiento al personal de las distintas cátedras que en una u otra forma colaboraron para que este trabajo llegara a su fin.



A mis padres

A Griselda y Jorge

Efectos de los iones sobre los antibióticos: estreptomici-
na, sintomicetina, acromicina, y terramicina y su posterior a -
plicación a los hemocultivos.

Plan : Basándose en los trabajos de los doctores Martha Polichenco y Raúl G. Coronato , referente a la acción de los iones sobre la penicilina ; y del doctor Ricardo A. Margni sobre la aplicación del sulfato de cobre como inhibidor de la penicilina en los hemocultivos se han realizado los ensayos que son motivo de esta tesis de doctorado.

Antes de entrar de lleno en la narración de las experiencias se hará un comentario sobre los trabajos anteriormente citados.

Los doctores Polichenco y Coronato encontrando poca bibliografía sobre el tema, decidieron ampliar los conocimientos que se tienen sobre la acción de los diversos cationes metálicos sobre el sistema germen - penicilina, ya sea inhibiendo o exaltando el efecto que la droga pueda tener sobre el germen.

Con esa finalidad y usando la técnica adoptada en este trabajo y la cual se describirá posteriormente, ensayan la acción de los siguientes iones sobre la penicilina: Cr, Mn, Co, Ca, AsO_4^{3-} , Bi, Li, Al, Sr, Au, Rb, Hg, Hg^{+} , Ag, Pb, Ni, Cd, Hg^{++} , Fe^{+++} , Zn, UO_2 , Fe^{++} , Cu.

Con objeto de poder establecer una comparación, usan en todos los casos soluciones de iones metálicos de idéntica concentración.

Los gérmenes que emplean para los ensayos son dos, el *Staphylococcus aureus* C-4901, que corresponde al 209-P, empleado por los investigadores de Oxford y el *Bacillus subtilis* C-4906, que conservan ambos por transplantes semanales o mensuales, respectivamente, en agar inclinado y que 24 horas antes del ensayo se resiembran en caldo simple.

Según Abraham y Chain la penicilina es inactivada por el cobre, zinc, cadmio, níquel, mercurio, y uranio pero sin expresar la cuantía de esa actividad. Por esta causa se quisieron llevar más adelante los ensayos procurando dar una idea numérica de ese efecto, comparando el aumento o reducción de la zona /

de inhibición de la penicilina en contacto con un metal determinado, con la de la penicilina control y dando como expresión numérica la diferencia en milímetros de las dos zonas.

Los gráficos con los cuales se interpretan los resultados, fueron elaborados con los promedios de 2576 determinaciones distintas, de las cuales corresponden aproximadamente 7 para cada metal y para cada uno de los intervalos en que fueron hechas las lecturas.

Las conclusiones que se deducen de este trabajo son las siguientes: 1º) Todos los metales que citan Abraham y Chain tienen, en efecto, acción destructiva sobre la actividad antibacteriana de la penicilina, pero existen otros no citados que también la poseen. Los que más acción demuestran son : Cu^{++} , UO_2^{++} , Zn^{++} , Hg^{++} , Bi^{+++} , Ni^{++} , Pb^{++} , Hg^{+} , Rb^{++} , etc.

2º) El cobre es muchísimo más activo que ningún otro catión y luego de 15 días de contacto, una solución de cobre, conteniendo 0,9mg. por litro, ha destruido por completo la actividad de una solución de penicilina que contiene 1 UO/cc.

El otro trabajo en el cual se basó esta tesis es el titulado "El empleo de las soluciones diluidas de sulfato de cobre como inhibidor de la penicilina en los hemocultivos" del doctor Ricardo A. Margni, y del cual se hace la siguiente transcripción para la mejor comprensión de las experiencias posteriores.

"Es bien conocido por todos lo difícil que resulta en la actualidad obtener hemocultivos positivos; y esa dificultad emana del empleo de los antibióticos, los que, encontrándose a diferentes concentraciones en el torrente circulatorio cuando son vertidos junto con la sangre a los medios de cultivos, crean condiciones desfavorables para el desarrollo bacteriano".

"Para ciertos antibióticos, se ha encontrado que determinadas sustancias al ser adicionadas a los medios nutricios actúan como antagónicos, inhibiendo su acción y permitiendo, en el caso de que la sangre sembrada proceda de una bacteriemia o una septicemia, que los gérmenes desarrollen normalmente".

"La cistina tiene acción antagónica sobre la estreptomisina y la penicilinasas sobre la penicilina. Para los restantes antibióticos el recurso que queda es el de la dilución, es decir, sembrar pequeñas cantidades de sangre en grandes volúmenes de medios de cultivo".

"En una comunicación de Coronato y Polichenco, se indica la acción favorable e inhibitoria que sobre las soluciones de penicilina tienen los diferentes cationes. De los estudios de dichos cuadros he podido comprobar que el cobre es de acción bastante intensa a pequeñas concentraciones y ello me ha llevado a estudiar la acción del sulfato de cobre sobre las sangres procedentes de pacientes tratados con penicilina, y además la máxima concentración tolerable de dicha sal por parte de las diferentes bacterias, con fines a la utilización de la misma como inhibitoria de la penicilina en los hemocultivos".

"El primer ensayo que se hizo fué el de determinar la máxima concentración de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) tolerable por parte de las distintas bacterias posibles de hallar en los hemocultivos".

"Los resultados obtenidos son los que siguen :

<i>Staphilococcus aureus</i>	1/400
<i>Staphilococcus citreus</i>	1/400
<i>Staphilococcus albus</i>	1/500
<i>Streptococcus hemolítico (viridans)</i> ..	1/5000
<i>Streptococcus hemolítico (hemolítico)</i> ..	1/5000
<i>Streptococcus hemolítico (anhemolítico)</i> ..	1/5000
<i>Streptococcus faecalis(Enterococo)</i> ..	1/2000
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	1/5000
<i>Escherichia coli</i>	1/1000
<i>Aerobacter aerógenes</i>	1/1000
<i>Salmonella typhi</i>	1/1000
<i>Salmonella paratyphi A</i>	1/1000
<i>Salmonella paratyphi B</i>	1/1000
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1/500
<i>Proteus vulgaris</i>	1/500
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/500
<i>Shigella shigae</i>	1/2000
<i>Brucella abortus</i>	1/5000
<i>Brucella suis</i>	1/5000
<i>Brucella melitensis</i>	1/5000
<i>Bacillus anthracis</i>	1/500

"La segunda serie de ensayos consistió en determinar en que condiciones el $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, a una dilución mayor que la máxima tolerable por la bacteria más sensible, era capaz de destruir la ^epenicilina contenida en la sangre."

"Para ello a muestras de sangre conteniendo 4 Unidades Oxford de penicilina, ya que cantidades superiores a ésta pueden difícilmente encontrarse en sangre circulante, se les añadió $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ de manera tal que la concentración final fuese de 1/10.000, concentración esta sin acción inhibitoria sobre el crecimiento de ninguna de las bacterias ensayadas."

"Los estudios fueron hechos en función del tiempo y la temperatura y los resultados obtenidos los que a continuación se indican:

<u>Concentración de penicilina</u>			
<u>en U.O.</u>			
		<u>Temperatura ambiente</u>	<u>37°C</u>
	30 minutos de contacto	4,0	3,6
Sangre +4UO penicilina+ sulfato de cobre 1/10.000	1 hora de contacto	3,5	3,0
	2 horas de contacto	2,5	2,2
	3 horas de contacto	1,0	0,7
	4 horas de contacto	0,5	0,3
	5 horas de contacto	0,5	0,0
	6 horas de contacto	0,3	0,0
Sangre #4UO			
de penicilina	6 horas de contacto	4,0	3,6

"De acuerdo al cuadro que antecede, con una permanencia de seis horas en estufa de la mezcla: sangre-penicilina-sulfato de cobre, se logra la destrucción total del antibiótico, lo que hace posible el empleo de las soluciones diluidas de sulfato de cobre hidratado como antagonico de la penicilina en la práctica corriente del hemocultivo."

"Tiene la ventaja de su fácil preparación y esterilización."

"Para efectuar los hemocultivos conviene preparar soluciones de sulfato de cobre y citrato de sodio, sobre la que se recoge la sangre asepticamente extraída, y dicha mezcla se deja en estufa a 37°C por 6 horas y recién a partir de ese instante se efectúan las siembras en los distintos medios nutricios."

"La solución de citrato de sodio-sulfato de cobre es la que sigue:"

Sulfato de cobre con 5 moléculas de agua 0,5gr
 Citrato de sodio con 2 moléculas de agua 50gr
 Agua destilada 1000 ml
 "Esterilizar a 120°C por 30 minutos".

"En tubos de ensayo conteniendo 2ml. de la solución anterior estéril, añadir 8 ml de sangre asépticamente extraída." "La misma permanecerá incoagulable por acción del citrato de sodio y a su vez la concentración del sulfato de cobre será de 1/10.000, es decir, la necesaria para que la penicilina sea destruida."

"Como ensayo final se realizó un breve estudio comparativo, efectuando 23 hemocultivos, por duplicado, correspondiendo una de las series a muestras sin tratamiento previo, y la otra a sangres puestas previamente en contacto con la sal de cobre."

"Los resultados obtenidos son los que siguen:"

	<u>Positivos</u>	<u>Negativos</u>
Muestras sin tratamiento previo:	5	18
Muestras añadidas de sulfato de cobre:	11	12

"CONCLUSIONES"

"De acuerdo a los ensayos que anteceden puede establecerse que:"

"1)-Las soluciones diluidas de sulfato de cobre hidratado no tienen acción desfavorable sobre el crecimiento bacteriano de aquellos gérmenes posibles de hallar en los hemocultivos."

"2)-Dichas soluciones tienen acción destructiva sobre la penicilina."

"3)-El breve estudio comparativo efectuado demuestra que el añadido previo de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a una concentración final de 1/10.000, a las sangres a emplear en hemocultivos, procedentes de enfermos tratados con penicilina, aumenta la positividad de los resultados."

INTRODUCCION

Este trabajo de tesis de doctorado , el cual se ha titulado " Efectos de los iones sobre los antibióticos :estreptomina,acromicina,sintomicetina y terramicina y su posterior aplicación a los hemocultivos" ;para su mejor realización se ha dividido en cinco partes.

1º) Parte : Estudiar la acción de los iones a usar sobre los antibióticos, midiendo el efecto inhibitor que los mismos manifiesten sobre un germen sensible.

2º) Parte : Determinar en los iones que actúan inhibiendo con más intensidad al antibiótico, la máxima concentración tolerable por las bacterias que pueden hallarse en el hemocultivo.

3º) Parte : Usando mezclas de los iones seleccionados en las experiencias anteriores determinar si el poder inhibitor se acrecienta.

4º) Parte : Determinar las condiciones óptimas para que el ión en una concentración menor que la máxima tolerable por la bacteria más sensible, destruya el antibiótico.

5º) Parte : Aplicando los resultados obtenidos en los ensayos anteriores, agregar a las sangres obtenidas de pacientes tratados con los antibióticos ensayados, soluciones de iones que destruyan su acción inhibitor sobre los gérmenes.

Habiéndose detallado el plan de trabajo se pasará a tratar cada parte en particular.

PRIMERA PARTE

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES DE IONES

Operaciones : Utilizamos las sales más solubles de los diez iones a ensayar, preparando soluciones acuosas equivalentes a 1 gramo del ión por 100 mililitros.

Estas soluciones se preparan según los siguientes cálculos:

Cu++

Sal usada : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 249,634

Peso atómico del cobre = 63,57

Cantidad de sal pesada = 3,926 gramos

Co++

Sal usada = $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 237,902

Peso atómico del cobalto = 58,94

Cantidad de sal pesada = 4,036 gramos

Zn++

Sal usada = $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 219,484

Peso atómico del zinc = 65,38

Cantidad de sal pesada = 3,357 gramos

Cd++

Sal usada = $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 228,364

Peso atómico del cadmio = 112,41

Cantidad de sal pesada = 2,031 gramos

Hg++

Sal usada = $\text{HgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 246,492

Peso atómico del mercurio = 200,59

Cantidad de sal pesada = 7,182 gramos

$\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$

Sal usada = $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$

Peso molecular = 294,212

Peso atómico del cromo = 52,01

Cantidad de sal pesada = 2,828 gramos

Hg++

Sal usada = HgCl_2

Peso molecular = 271,524

Peso atómico del mercurio = 200,61

Cantidad de sal pesada = 1,353 gramos

Ag+

Sal usada = AgNO_3

Peso molecular = 169,888

Peso atómico de la plata = 107,88

Cantidad de sal pesada = 1,574 gramos

Hg+

Sal usada = $\text{HgNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 280,634

Peso atómico del mercurio = 200,61

Cantidad de sal pesada = 1,398 gramos

Cr+++

Sal usada = $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 15\text{H}_2\text{O}$

Peso molecular = 662,440

Peso atómico del cromo = 52,01

Cantidad de sal pesada = 6,368 gramos

Después de pesar las cantidades indicadas, se solubilizan hasta 100 mililitros con agua destilada, con lo que se obtiene una solución madre que contiene 1 gramo de ión por 100 ml.

Estas soluciones de los iones se esterilizan en autoclave a 120°C durante 20 minutos.

En el momento de realizar los ensayos se diluyen las soluciones anteriores al 1/10.000, haciendo que la concentración final del ión corresponda a 1 gramo en 1.000.000.

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES DE LOS ANTIBIOTICOS

Sintomicetina : Se usa este antibiótico en comprimidos que contienen 0,250 gramos cada uno. Se solubiliza un comprimido en cantidad determinada de solución fisiológica, previamente esterilizada y luego se diluye de tal manera que la concentración final corresponda a 1,000 microgramos por mililitro.

El producto usado es de Laboratorios "Le Petit".

Acromicina : Se usan envases de acromicina inyectable que contienen 100 miligramos de antibiótico en polvo. Se solubiliza su contenido en solución fisiológica estéril y luego se diluye también en solución fisiológica de tal manera que la concentración final sea de 1.000 microgramos por mililitro.

El producto usado es de Laboratorios "Lederle".

Terramicina : Este antibiótico se presenta en envases semejantes a los de la acromicina, por lo cual su dilución se lleva a cabo de la misma manera.

El producto usado es de Laboratorios "Pfizer".

Estreptomicina : Se usan envases que contienen sulfato de estreptomicina en cantidad equivalente a 1 gramo de estreptomicina base. Se diluye en solución fisiológica estéril de tal manera que la concentración final corresponda a 100.000 microgramos por mililitro .

El producto usado es marca "Anodia" de la Franco Inglesa.

Se usan como diluciones de los antibióticos, aquellas que en los ensayos previos, empleando la misma técnica del trabajo, resultaron las óptimas para la lectura de los resultados.

Estos ensayos dan como concentraciones óptimas las siguientes: estreptomicina: 10.000 microgramos por mililitro; sintomicetina: 100 microgramos por mililitro; acromicina : 100 microgramos por mililitro ; terramicina: 100 microgramos por mililitro .

De acuerdo a estos resultados se preparan las diluciones de los antibióticos en soluciones 10 veces más concen - /

tradas que las óptimas y luego se diluyen al 1/10 en las soluciones de los iones, quedando entonces estos en la concentración final de 0,9 miligramos por litro.

Simultáneamente y a partir de las soluciones madres de los antibióticos, se preparan diluyendo al 1/10 en solución fisiológica, las soluciones que se usan como testigos.

Como medio de cultivo se usa agar. Se procede a llenar placas de Petri con 10 centímetros cúbicos de agar licuado, y previamente sembrados con 0,1 mililitro de un cultivo en caldo de 24 horas del germen sensible.

El germen que se usa es el *Staphylococcus Aureus*, cepa Healty. Se prepara un cultivo en caldo y se deja 24 horas en estufa a 37°C. Se licúa el agar en baño de agua a 100°C y se lo deja enfriar, cuando está aproximadamente a 42°C se siembra con 0,1 mililitro del cultivo anterior, se agita, y se llenan las placas de Petri.

Una vez llenadas las placas, se procede a colocar sobre el agar los discos de papel absorbente que constituyen el soporte de las soluciones de los antibióticos e iones.

Estos discos de papel absorbente miden 17 mm de diámetro y 1 mm de espesor; como no se consiguen ya preparados de este tamaño, se cortan de papel de filtro de poro grueso, marcándolos previamente con un sacabocado de 17 mm de luz y luego se toman de a cuatro para que el espesor sea de 1mm.

Con pinza esterilizada se colocan cuatro de ellos por placa distribuidos en su superficie.

Un disco por placa se usa como control y se carga con 0,1 mililitro de la solución testigo de antibiótico, mientras que los otros 3 discos se cargan con 0,1 mililitro de la solución de ión - antibiótico.

Se preparan tres placas para cada ión y cada antibiótico. Se hacen por lo tanto un total de nueve lecturas para cada ión en cada antibiótico. Se hacen treinta y seis lecturas para cada ión en particular. En total para los diez iones y los cuatro antibióticos se hacen cuatrocientas ochenta (480) lecturas.

Las placas de Petri así preparadas se dejan en la estufa/

a 37°C durante 24 horas para permitir el crecimiento del *Staphylococcus Aureus* y al cabo de ese tiempo se hacen las lecturas.

Se miden los halos de inhibición y luego, para dar una expresión numérica del poder de inhibición de los iones sobre los antibióticos se hallan las diferencias entre los halos de inhibición de los discos cargados con la solución - antibiótico y del testigo.

Estos resultados se representan gráficamente expresando linealmente la diferencia en milímetros de los diámetros de los halos o en círculos que corresponden a los distintos halos de inhibición.

Todos los datos que se usan corresponden a los promedios de todas las lecturas.

Resultados en milímetros

Sintomicetina

<u>Zn++</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	20 - 18 - 21
" n°2 =	29	20 - 20 - 20
" n°3 =	30	19 - 19 - 20
<u>Promedios =</u>	29,3	19,6
<u>Diferencia =</u>		<u>9,7</u>

<u>Cu++</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	28	22 - 20 - 21
" n°2 =	29	21 - 20 - 20
" n°3 =	26	19 - 20 - 20
<u>Promedios =</u>	27,6	20,3
<u>Diferencia =</u>		<u>2,3</u>

<u>Co++</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	25	20 - 19 - 20

Placa n° 2= 27
 " n°3 = 30
Promedios = 27,3
Diferencia =

20 - 20 - 20
 21 - 20 - 20
 20

7,3

Cd++
Testigo
 Placa n°1 = 31
 " n°2 = 27
 " n°3 = 28
Promedios = 28,6
Diferencia =

Ión-antibiótico
 21 - 21 - 22
 20 - 20 - 21
 22 - 19 - 21
 20,7

7,9

Li++
Testigo
 Placa n°1 = 31
 " n°2 = 28
 " n°3 = 27
Promedios = 28,6
Diferencia =

Ión-antibiótico
 22 - 22 - 24
 24 - 20 - 20
 19 - 20 - 21
 21,3

7,3

Cr₂O₇--
Testigo
 Placa n°1 = 28
 " n°2 = 28
 " n°3 = 29
Promedios = 28,3
Diferencia =

Ión-antibiótico
 20 - 20 - 20
 20 - 20 - 20
 21 - 21 - 21
 20,3

8,0

Hg++
Testigo
 Placa n°1 = 28
 " n°2 = 27
 " n°3 = 27
Promedios = 27,3
Diferencia =

Ión-antibiótico
 21 - 21 - 21
 21 - 21 - 21
 19 - 21 - 22
 20,8

6,5

<u>Hg+</u>	
<u>Testigo</u>	
Placa n°1 =	25
" n°2 =	27
" n°3 =	25
<u>Promedios =</u>	25,6
<u>Diferencia =</u>	

<u>Ión-antibiótico</u>	
21 - 20 - 21	
21 - 19 - 20	
17 - 21 - 19	
19,7	
	<u>6,8</u>

<u>Ag+</u>	
<u>Testigo</u>	
Placa n°1 =	26
" n°2 =	27
" n°3 =	29
<u>Promedios =</u>	27,3
<u>Diferencia =</u>	

<u>Ión-antibiótico</u>	
23 - 22 - 22	
21 - 21 - 21	
20 - 20 - 26	
21,7	
	<u>5,6</u>

<u>Cr+++</u>	
<u>Testigo</u>	
Placa n°1 =	28
Placa n°2 =	25
" n°3 =	28
<u>Promedios =</u>	27
<u>Diferencia =</u>	

<u>Ión-antibiótico</u>	
21 - 21 - 21	
19 - 20 - 20	
19 - 19 - 18	
19,7	
	<u>7,3</u>

Acromicina

<u>Cr₂O₇—</u>	
<u>Testigo</u>	
Placa n°1 =	41
" n°2 =	43
" n°3 =	41
<u>Promedios =</u>	41,6
<u>Diferencia =</u>	

<u>Ión-antibiótico</u>	
39 - 37 - 36	
36 - 37 - 39	
37 - 37 - 38	
37,3	
	<u>4,3</u>

<u>Ag++</u>	
<u>Testigo</u>	
Placa n°1 =	39

<u>Ión-antibiótico</u>	
38 - 38 - 37	

Placa n°2 =	42	39 - 38 - 37
" n°3 =	41	38 - 34 - 37
<u>Promedios =</u>	40,6	37,3
<u>Diferencia =</u>	<u>3,3</u>	

<u>Hg++</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
<u>Testigo</u>		
Placa N°1 =	40	35 - 39 - 38
" n°2 =	40	38 - 38 - 36
" n°3 =	37	35 - 35 - 35
<u>Promedios =</u>	39	36,7
<u>Diferencia =</u>	<u>2,3</u>	

<u>Cr+++</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
<u>Testigo</u>		
Placa n°1 =	--	-----
" n°2 =	42	41 - 40 - 41
" n°3 =	39	37 - 38 - 42
<u>Promedios =</u>	40,5	39,8
<u>Diferencia =</u>	<u>0,7</u>	

<u>Hg+</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
<u>Testigo</u>		
Placa n°1 =	42	37 - 37 - 39
" n°2 =	37	35 - 36 - 35
" n°3 =	38	35 - 37 - 40
<u>Promedios =</u>	39	36,7
<u>Diferencia =</u>	<u>2,3</u>	

<u>Zn++</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
<u>Testigo</u>		
Placa n°1 =	39	39 - 38 - 39
" n°2 =	35	37 - 38 - 39
" n°3 =	37	36 - 34 - 35
<u>Promedios =</u>	37	37,2
<u>Diferencia =</u>	<u>-0,2</u>	

<u>Ag+</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	39	39 - 37 - 37
" n°2 =	40	38 - — - 37
" n°3 =	37	36 - 36 - 38
<u>Promedios =</u>	<u>38,6</u>	<u>37,2</u>
<u>Diferencia =</u>	<u>1,4</u>	

<u>Co++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	43 - 38 - 40
" n°2 =	40	40 - 35 - 37
" n°3 =	40	39 - 36 - 35
<u>Promedios =</u>	<u>40</u>	<u>38,1</u>
<u>Diferencia =</u>	<u>1,9</u>	

<u>Cd++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	—	—
" n°2 =	37	37 - 37 - 39
" n°3 =	37	36 - 35 - 35
<u>Promedios =</u>	<u>37</u>	<u>36,5</u>
<u>Diferencia =</u>	<u>0,5</u>	

<u>Cu++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	38 - 36 - 39
" n°2 =	39	36 - 35 - 37
" n°3 =	39	36 - 37 - 38
<u>Promedios =</u>	<u>39,3</u>	<u>36,8</u>
<u>Diferencia =</u>	<u>2,5</u>	

Terramicina

<u>Cu++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	40 - 39 - 39
" n°2 =	40	39 - 38 - 39
" n°3 =	38	39 - 36 - 40
<u>Promedios =</u>	<u>39,3</u>	<u>38,7</u>
<u>Diferencia =</u>	<u>0,6</u>	

<u>Co++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	40 - 39 - 38
" n°2 =	39	40 - 39 - 38
" n°3 =	37	38 - 38 - 40
<u>Promedios =</u>	38,6	38,8
<u>Diferencia =</u>	<u>-0,2</u>	

<u>Zn++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	39	38 - 38 - 37
" n°2 =	39	39 - 38 - 39
" n°3 =	35	37 - 35 - 38
<u>Promedios =</u>	37,6	37,6
<u>Diferencia =</u>	<u>0,0</u>	

<u>Eg++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	41	41 - 40 - 41
" n°2 =	40	35 - 40 - 40
" n°3 =	36	38 - 37 - 38
<u>Promedios =</u>	39	38,8
<u>Diferencia =</u>	<u>0,2</u>	

<u>Hg+</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	39	38 - 37 - 38
" n°2 =	38	34 - 36 - 33
" n°3 =	37	34 - 33 - 37
<u>Promedios =</u>	38	35,5
<u>Diferencia =</u>	<u>2,5</u>	

<u>Cr₂O₇—</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	39	39 - 37 - 38
" n°2 =	42	38 - 36 - 39
" n°3 =	38	35 - 38 - 43
<u>Promedios =</u>	39,6	38,1
<u>Diferencia =</u>	<u>1,5</u>	

<u>Cr+++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	39	39 - 41 - 41
" n°2 =	39	38 - 38 - 39
" n°3 =	40	38 - 41 - 39
<u>Promedios</u> =	39	39,3
<u>Diferencia</u> =		<u>-0,3</u>

<u>Cd++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	38 - 38 - 36
" n°2 =	39	38 - 38 - 40
" n°3 =	33	37 - 37 - 37
<u>Promedios</u> =	37,3	37,6
<u>Diferencia</u> =		<u>-0,3</u>

<u>Hg++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	40	39 - — - 43
" n°2 =	40	39 - 39 - 41
" n°3 =	41	40 - 37 - 43
<u>Promedios</u> =	40,3	40
<u>Diferencia</u> =		<u>0,3</u>

<u>Ag+</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	33	30 - 34 - 38
" n°2 =	39	37 - 37 - 35
" n°3 =	38	38 - 36 - 36
<u>Promedios</u> =	36,6	36,5
<u>Diferencia</u> =		<u>0,1</u>

Estreptomicina

<u>Cr+++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	33	30 - 26 - 32
" n°2 =	30	30 - 29 - 31
" n°3 =	40	31 - 28 - 27
<u>Promedios</u> =	34,3	29,3
<u>Diferencia</u> =		<u>5,0</u>

<u>Hg+</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	28 - 28 - 29
" n°2 =	25	29 - 27 - 26
" n°3 =	31	28 - 27 - 29
<u>Promedios =</u>	28,3	27,8
<u>Diferencia =</u>		<u>0,5</u>

<u>Zn++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	30	28 - 26 - 29
" n°2 =	35	25 - 28 - 29
" n°3 =	29	23 - 25 - 27
<u>Promedios =</u>	31,3	26,6
<u>Diferencia =</u>		<u>4,7</u>

<u>Hg++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	28	27 - 25 - 28
" n°2 =	30	27 - 27 - 28
" n°3 =	27	28 - 25 - 27
<u>Promedios =</u>	28,3	26,8
<u>Diferencia =</u>		<u>1,5</u>

<u>Cr₂O₇²⁻</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	38	28 - 23 - 27
" n°2 =	23	24 - 26 - 28
" n°3 =	29	27 - 25 - 29
<u>Promedios =</u>	30	26,8
<u>Diferencia =</u>		<u>3,2</u>

<u>Cu++</u>		
	<u>Testigo</u>	<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	26	26 - 27 - 28
" n°2 =	26	27 - 27 - 29
" n°3 =	28	27 - 29 - 27
<u>Promedios =</u>	26,6	27,4
<u>Diferencia =</u>		<u>-0,8</u>

<u>Ag+</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	27 - 26 - 27
" n°2 =	27	27 - 27 - 28
" n°3 =	33	27 - 27 - 33
<u>Promedios =</u>	29,6	27,6
<u>Diferencia =</u>	<u>2,0</u>	

<u>Co++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	27 - 28 - 31
" n°2 =	29	27 - 26 - 31
" n°3 =	—	—
<u>Promedios =</u>	29	27,3
<u>Diferencia =</u>	<u>1,7</u>	

<u>Cd++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	27 - 25 - 27
" n°2 =	27	27 - 26 - 27
" n°3 =	26	27 - 27 - 24
<u>Promedios =</u>	27,3	26,5
<u>Diferencia =</u>	<u>0,8</u>	

<u>Mg++</u>		
<u>Testigo</u>		<u>Ión-antibiótico</u>
Placa n°1 =	29	29 - 29 - 37
" n°2 =	34	25 - 28 - 26
" n°3 =	28	28 - 26 - 28
<u>Promedios =</u>	30,3	28,4
<u>Diferencia =</u>	<u>1,9</u>	

CONCLUSIONES

Sintomicetina : Actúan disminuyendo su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus* los siguientes iones Ag^+ , Hg^{++} , Hg^+ , Cu^{++} , Co^{++} , Hg^{++} , Cr^{+++} , Cd^{++} y con mayor intensidad que los precedentes el $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ y Zn^{++} .

Acromicina : Ningún ión actúa favoreciendo su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus*, mientras que la disminuirían los iones Hg^+ , Hg^{++} , y con cierta intensidad el Cu^{++} , Hg^{++} y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$.

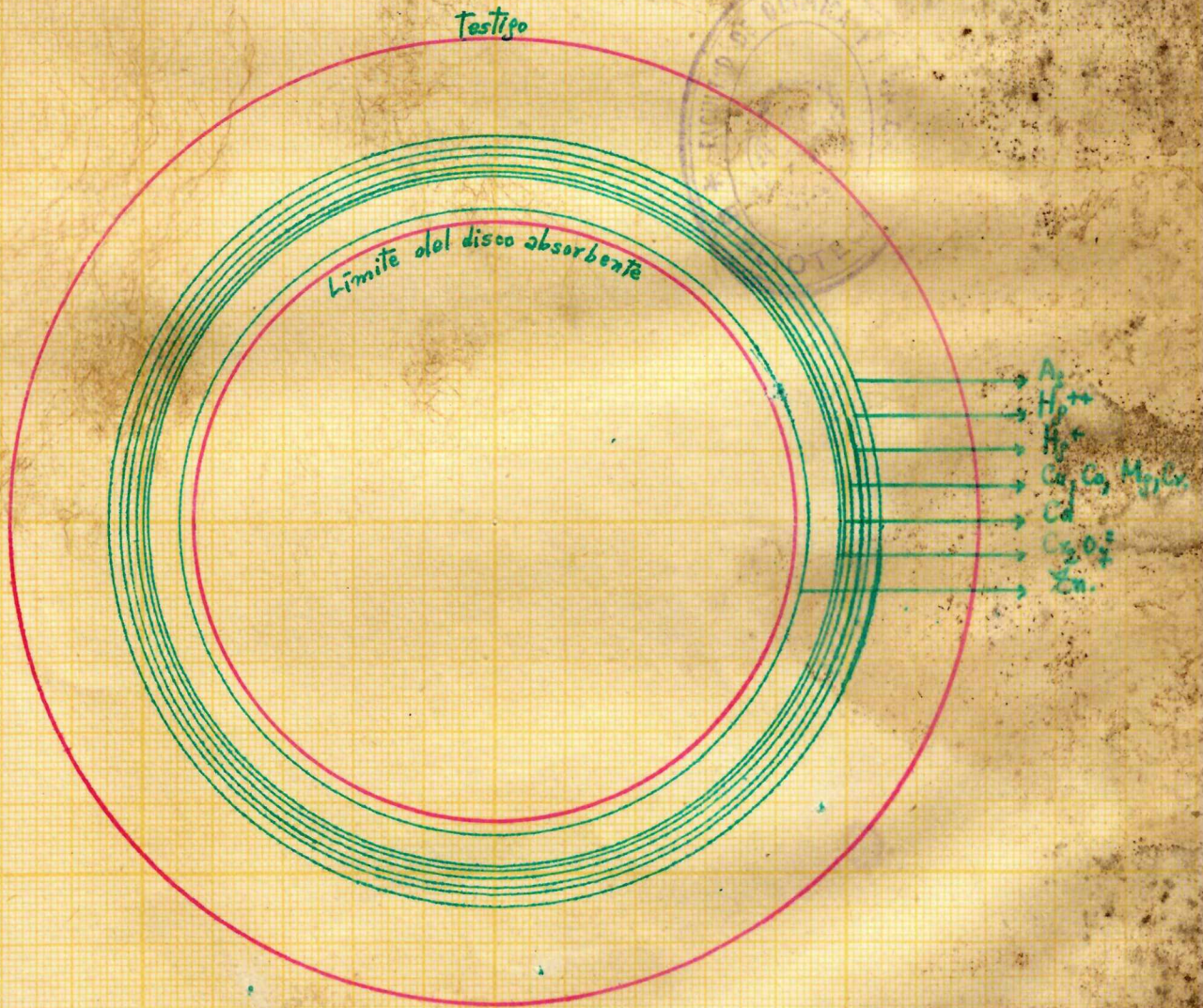
Terramicina : No favorecen su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus* el Cr^{+++} , Cd^{++} , Co^{++} , Zn^{++} , Ag^+ , Hg^{++} , Hg^+ , y la disminuiría el Hg^+ .

Estreptomicina : Ningún ión favorece su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus*, mientras que la disminuye el Zn^{++} .

Sintomicetina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

Escola (5:1)

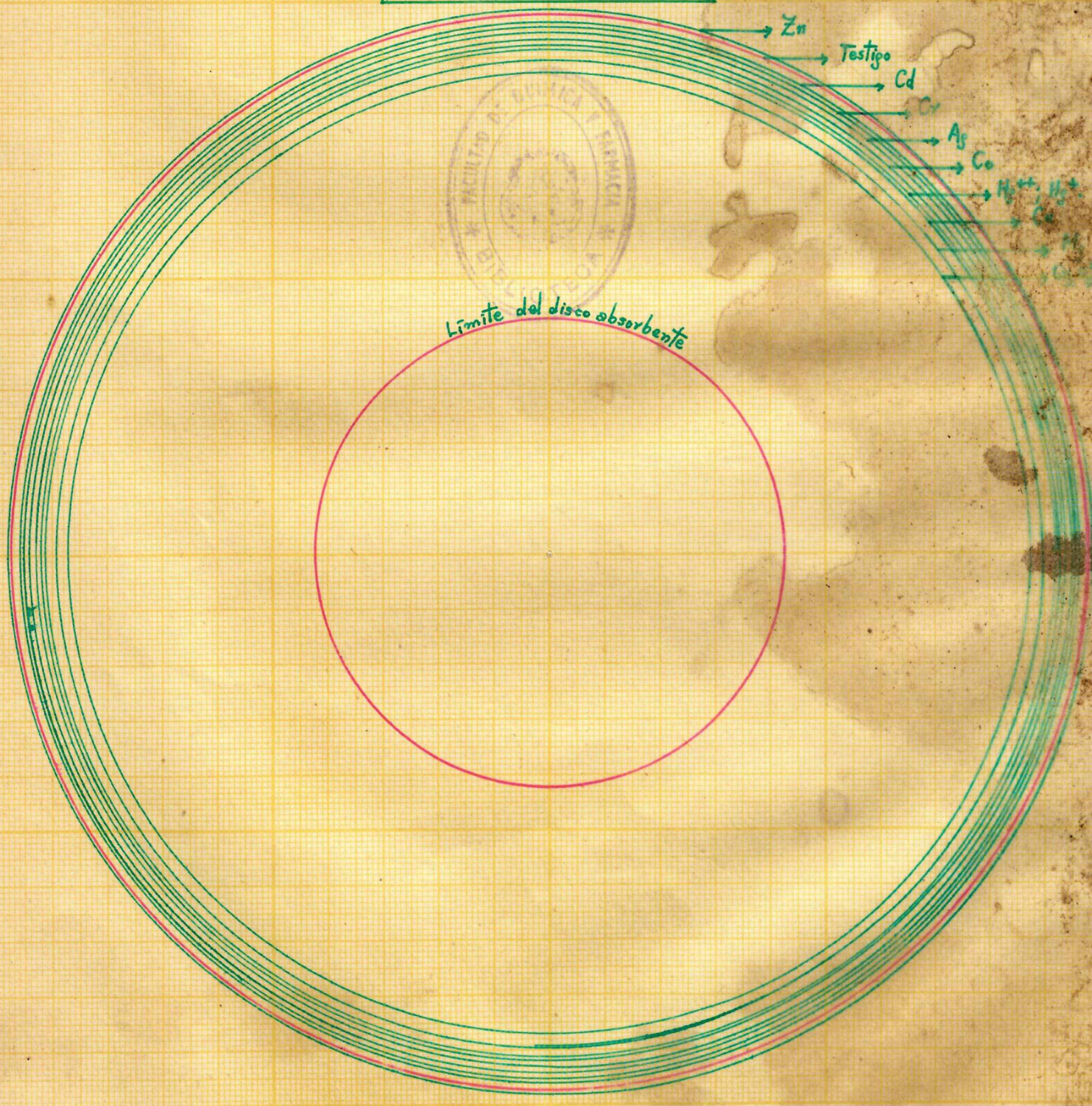
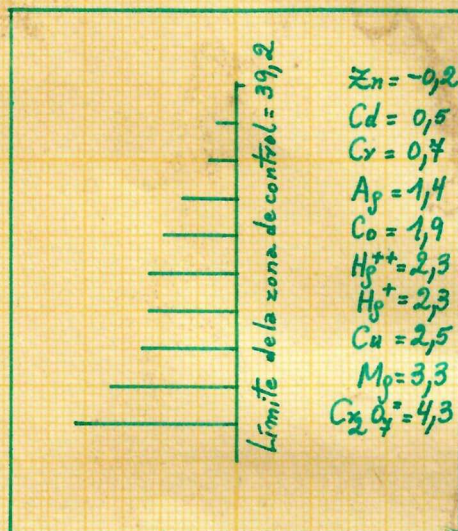




Acromicina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

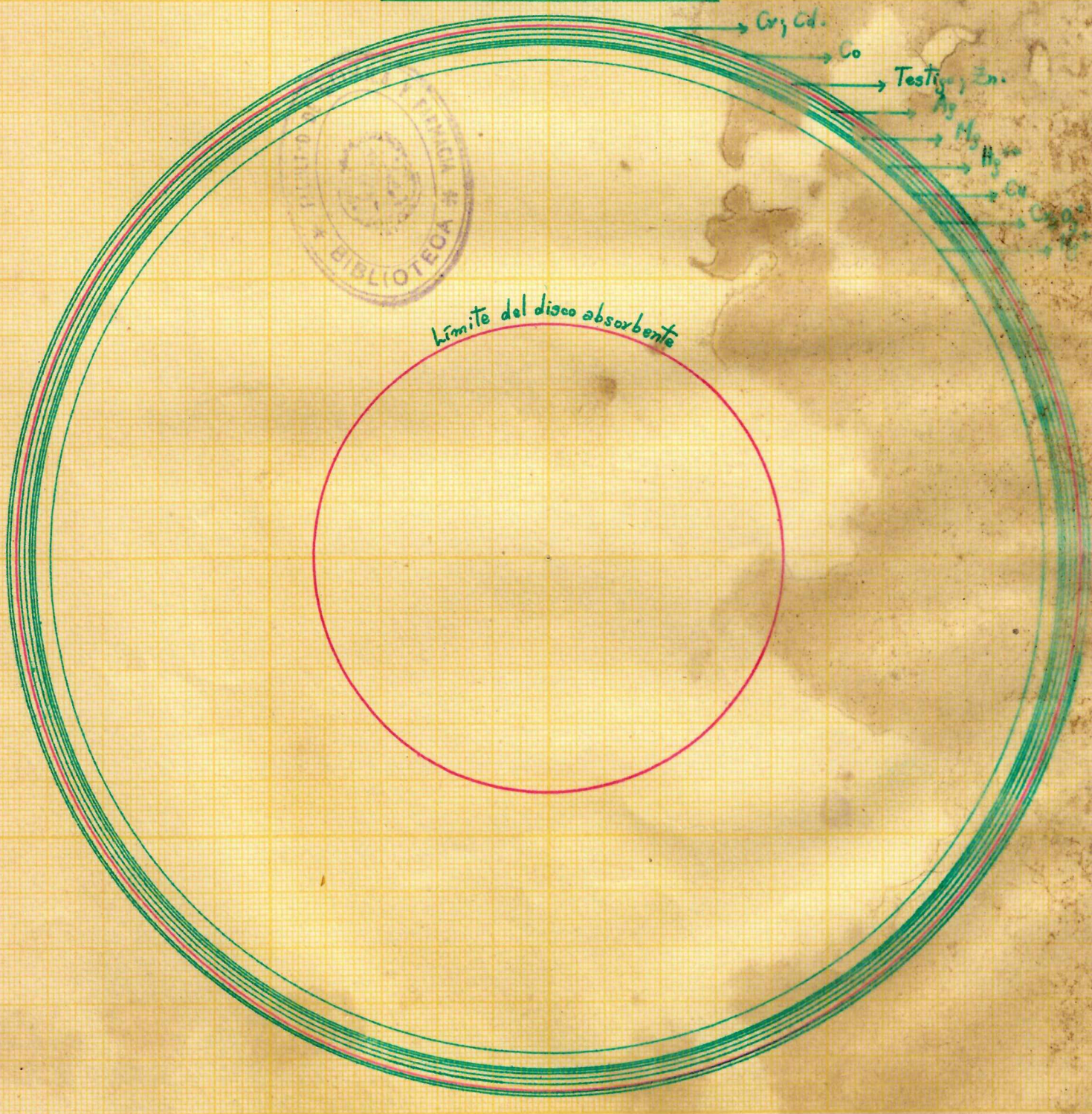
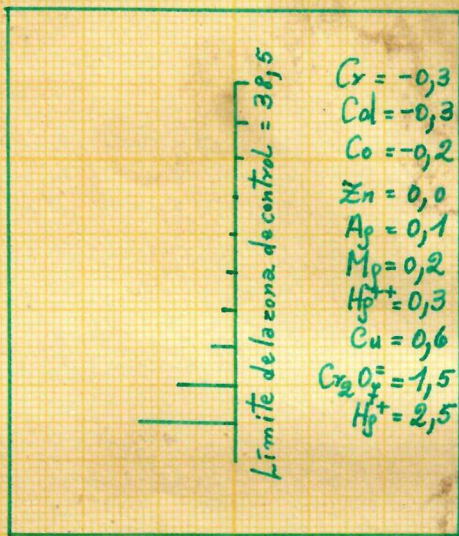
(Escala 5:1)



Terramicina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

(Escala 5:1)

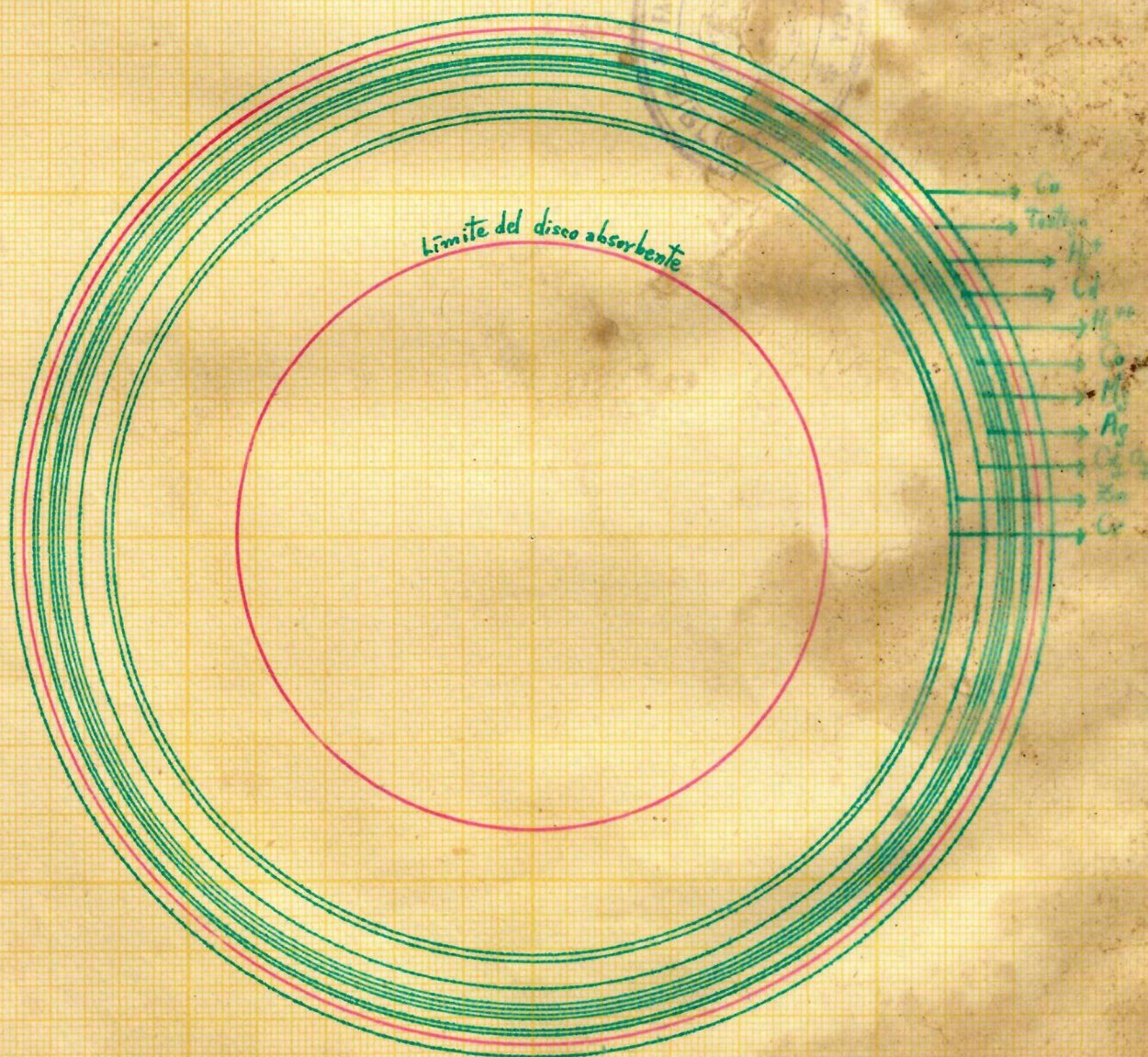
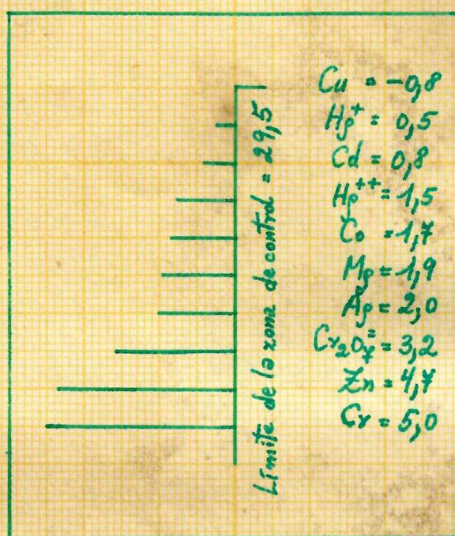




Estreptomicina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

(Escala 5:1)



SEGUNDA PARTE

Esta segunda parte del trabajo, consiste en la determinación de la máxima concentración de los iones Cu^{++} , Zn^{++} , y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ tolerable por las diferentes bacterias que con mayor frecuencia pueden aislarse en los hemocultivos.

Las experiencias con el ión Cu^{++} fueron hechas por el Doctor Ricardo A. Margni en su trabajo "El empleo de las soluciones diluidas de sulfato de cobre como inhibidor de la penicilina en los hemocultivos", publicado en la Revista del Instituto Malbrán, Tomo IVI; Número 4; año. 1954.-

Se repiten dichos ensayos y de acuerdo a la misma técnica, se determinan el poder bacteriostático de los iones Zn^{++} y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$.

Operaciones : Se hacen soluciones en caldo de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, haciendo que las concentraciones finales de Cr, Zn, y Cu sean de 1/400, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/4000 y 1/5000 y luego se procede a sembrar en los medios de cultivos así preparados las bacterias.

Para las *Brucellas Melitensis*, *Abortus* y *Suis* se usa el agar Stafseth, por ser el medio que rutinariamente se emplea con tal fin.

Una vez sembradas las diferentes bacterias en los medios de cultivo correspondientes, se incuban 24 horas en estufa a 37°C .

Se procede luego a comprobar que concentraciones de Zn, Cu y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ permiten el crecimiento de las bacterias.

RESULTADOSGermenConcentraciones del ión Zn++

	<u>1</u> <u>400</u>	<u>1</u> <u>500</u>	<u>1</u> <u>1000</u>	<u>1</u> <u>2000</u>	<u>1</u> <u>3000</u>	<u>1</u> <u>4000</u>	<u>1</u> <u>5000</u>
<i>Staphilococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphilococcus citreus</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Staphilococcus albus</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Streptococcus viridans</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Escherichia Coli I</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia Coli II</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Aerobacter aerogenes</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Salmonella paratyphi B</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Bacillus anthracis</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Brucella abortus</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Brucella suis</i>	-	-	-	-	+	+	+
<i>Brucella melitensis</i>	-	-	-	-	+	+	+

RESULTADOSGermenConcentraciones del ión Cu++

	<u>1</u> <u>400</u>	<u>1</u> <u>500</u>	<u>1</u> <u>1000</u>	<u>1</u> <u>2000</u>	<u>1</u> <u>3000</u>	<u>1</u> <u>4000</u>	<u>1</u> <u>5000</u>
<i>Staphilococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphilococcus citreus</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphilococcus albus</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus hemolítico</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Streptococcus viridans</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Escherichia Coli I</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Escherichia Coli II</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Aerobacter aerógenes</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella paratyphi D</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus anthraxis</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Brucella abortus</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Brucella suis</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Brucella melitensis</i>	-	-	-	-	-	-	+

RESULTADOS

<u>Germen</u>	<u>Concentraciones del ión $Cr_2O_7^{--}$</u>						
	$\frac{1}{400}$	$\frac{1}{500}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{2000}$	$\frac{1}{3000}$	$\frac{1}{4000}$	$\frac{1}{5000}$
<i>Staphilococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphilococcus citreus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphilococcus albus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus hemolítico</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Streptococcus viridans</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia Coli I</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia Coli II</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Aerobacter aerógenes</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella paratyphi A</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella paratyphi B</i>	-	-	-	-	-	-	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus anthracis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brucella abortus</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brucella suis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brucella melitensis</i>	-	-	-	-	-	-	-

CONCLUSIONES

Los iones Zn^{++} y Cu^{++} en diluciones de 1/5000 permiten el crecimiento de las bacterias ensayadas, no así el $Cr_2O_7^{--}$.

TERCERA PARTE

Una vez determinadas las concentraciones máximas de los iones Cu y Zn que inhiben los antibióticos ensayados, y no ejercen acción bactericida, se hace la misma experiencia con la mezcla de los dos iones, porque el usarlos juntos simplificaría mucho la aplicación práctica al hemocultivo, ya que los pacientes son tratados con diferentes antibióticos.

Se usan los iones Cu y Zn en concentración mucho menor que la máxima que permite el crecimiento de las bacterias.

Se hacen, en los tubos donde se sembrarán las bacterias, diluciones en los medios de cultivo, de tal manera que la concentración final de la mezcla Cu++ y Zn++ sea de 1/30.000, lo que corresponde aproximadamente a una concentración final de 1/10.000 de la mezcla de las sales $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.-

Se siembran las bacterias, se dejan 24 horas en estufa a 37°C y luego se observa si estas han desarrollado.

Resultados

	<u>Desarrollo</u>
<i>Staphilococcus aureus</i>	Positivo
<i>Staphilococcus citreus</i>	Positivo
<i>Staphilococcus albus</i>	Positivo
<i>Streptococcus viridans</i>	Positivo
<i>Streptococcus hemolítico</i>	Positivo
<i>Streptococcus faecalis</i>	Positivo
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	Positivo
<i>Escherichia Coli I</i>	Positivo
<i>Escherichia Coli II</i>	Positivo
<i>Aerobacter aerógenes</i>	Positivo
<i>Salmonella typhi</i>	Positivo
<i>Salmonella paratyphi A</i>	Positivo
<i>Salmonella paratyphi B</i>	Positivo
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Positivo
<i>Proteus vulgaris</i>	Positivo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo
<i>Bacillus anthracis</i>	Positivo

<u>Germen</u>	<u>Desarrollo</u>
<i>Brucella abortus</i>	Positivo
<i>Brucella suis</i>	Positivo
<i>Brucella melitensis</i>	Positivo

La mezcla de los iones $Zn + Cu$ en la concentración final de $1/10.000$ de $CuSO_4 \cdot 5H_2O + Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$. permite perfectamente el crecimiento de las bacterias estudiadas.

De acuerdo con los resultados anteriores, se determina el poder inhibidor, sobre el efecto bacteriostático de los antibióticos, sintomicetina, estreptomina, acromicina y terramicina sobre el *Staphilococcus aureus*, de la mezcla sulfato de cobre y acetato de zinc en la concentración de 1/10.000 .

Se usa la misma técnica que en la primera parte del trabajo.

Resultados en milímetros

<u>Antibiótico</u>	<u>Testigo</u>	<u>Antibiótico+Cu+Zn</u>	<u>Promedios</u>	<u>Diferencia</u>
Sintomicetina	25	26 - 25	25,5	-0,5
Estreptomina	30	31 - 32	31,5	-1,5
Terramicina	34	35 - 33	34	0,0
Acromicina	35	34 - 35	34,5	0,5

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados anteriores, la mezcla Zn+Cu tiene muy poco o ningún poder inhibitor sobre estos cuatro antibióticos, lo cual resulta en extremo paradójal por cuanto usados por separado muestran un gran efecto inhibitor, el Cu++ sobre la acromicina y terramicina y el Zn++ sobre la estreptomicina y sintomicotina.-

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

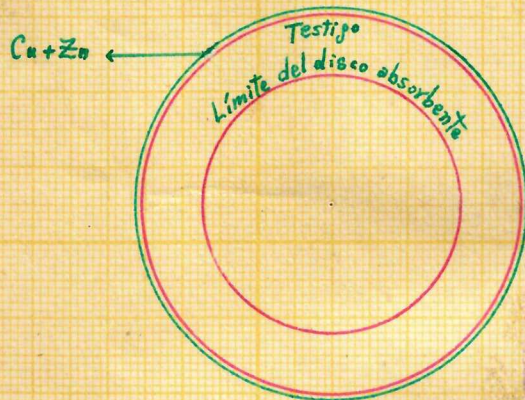
(Escala 5:1)

Sintomicetina

$$| \quad Cu + Zn = -0,5$$

Límite de la zona de control = 25

(Escala 2:1)



Estreptomina

$$| \quad Cu + Zn = -1,5$$

Límite de la zona de control = 25



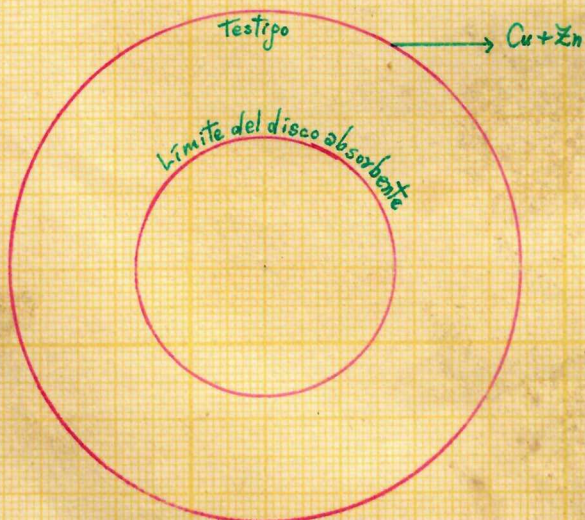
Terramicina

(Escala 5:1)

$$| \quad Cu + Zn = 0$$

Límite de la zona de control = 34

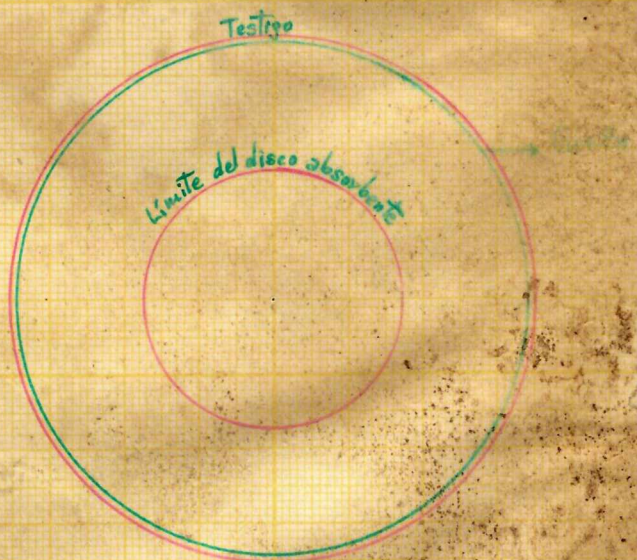
(Escala 2:1)



Acromicina

$$| \quad Cu + Zn = 0,5$$

Límite de la zona de control = 35



CUARTA PARTE

En esta parte del trabajo se tratan de determinar las condiciones de tiempo y temperatura en que se inhibirían completamente los cuatro antibióticos, frente a los iones Zn^{++} y Cu^{++} y frente a la mezcla de los mismos.

Teniendo en cuenta las conclusiones de la primera parte (pág.23), se hacen ensayos usando para cada antibiótico el catión que más lo inhibe, es decir el Cu^{++} para la acromicina y la terramicina y el Zn^{++} para la estreptomicina y la sintomicetina.

Se preparan soluciones de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ y $Zn(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$ al 1/10.000. Los antibióticos se usan en las mismas concentraciones que en la primera parte.

La técnica es la misma que anteriormente, pero se hacen ensayos hora por hora y en tres condiciones diferentes :se deja un tubo con la solución del antibiótico solo, al medio ambiente, éste es el testigo; a otros dos tubos con la solución del antibiótico se les agrega el Zn^{++} o Cu^{++} según corresponda, y se deja uno al medio ambiente y el otro en estufa a $37^{\circ}C$.

Es decir que en cada placa de Petri y para cada antibiótico hay tres discos de papel absorbente: 1º) antibiótico solo , 2º) antibiótico más el ión, al medio ambiente , y 3º) antibiótico más el ión, en estufa a $37^{\circ}C$.

Resultados en milímetros

Acromicina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1º	35	34	34
2º	34	32	32
3º	34	32	31
4º	36	31	30
5º	34	31	32
6º	35	30	30

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
7°	34	30	29
8°	34	29	27
9°	35	29	26
10°	34	28	25
11°	34	27	24
12°	35	26	23
13°	34	25	22
14°	35	25	21
15°	34	23	19
16°	35	23	18
17°	34	22	17

Promedio = 34

Terramicina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	37	36	35
2°	35	34	33
3°	35	32	28
4°	35	34	31
5°	35	34	27
6°	35	34	32
7°	35	33	27
8°	35	32	26
9°	35	32	25
10°	35	30	23
11°	35	29	21
12°	35	27	19
13°	35	25	17

Promedio = 35

Streptomycin

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	35	32	32

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
2°	32	30	30
3°	32	30	29
4°	30	30	27
5°	29	27	25
6°	27	25	24
7°	30	27	23
8°	20	26	23
9°	30	26	21
10°	30	24	21
11°	29	23	19
12°	31	21	18
13°	30	22	17

Promedio = 30

Sintomicotina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	26	25	24
2°	26	24	24
3°	29	24	20
4°	23	22	21
5°	25	22	21
6°	24	23	20
7°	25	22	19
8°	24	21	18
9°	25	20	18
10°	25	20	17

Promedio = 25

Comentario : Observamos que : A 37°C la inhibición de los antibióticos es mayor que a temperatura ambiente. Igualmente el tiempo de contacto influye favorablemente en dicha inhibición, siendo ésta total ya que el halo se reduce a 0mm. (el diámetro del disco de papel absorbente es 17mm.).-

A pesar de los resultados negativos que se obtienen con la mezcla Zn^{++} y Cu^{++} , (pág. 36) y por las consideraciones hechas en la página 33, se hacen los ensayos de tiempo y temperatura como en las experiencias anteriores.

Los antibióticos se usan en las mismas concentraciones que en la primera parte. Las soluciones se preparan como en los ensayos anteriores pero usando la mezcla de los iones Zn^{++} y Cu^{++} en la concentración final, de la mezcla de sales, de 1/10.000.-

Los ensayos se hicieron hora por hora hasta 6 horas, efectuándose una última lectura a las 24 horas, y no se continuaron porque durante ese tiempo se pudo observar que la mezcla Zn^{++} y Cu^{++} no tenía casi ninguna acción sobre los antibióticos.

Resultados en milímetros

Sintomicetina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	25	24	26
2°	25	24	25
3°	25	25	23
4°	25	25	24
5°	25	26	25
6°	25	27	25
24°	24	22	22

Estreptomicina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	30	27	29
2°	29	29	28
3°	30	30	30
4°	30	29	30
5°	29	30	28
6°	30	31	31
24°	27	27	25

Terramicina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	34	34	33
2°	34	33	34
3°	33	34	34
4°	34	35	34
5°	35	34	34
6°	35	35	35
24°	35	33	31

Acronicina

<u>Hora</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1°	35	34	34
2°	34	34	35
3°	35	34	34
4°	35	35	35
5°	36	35	37
6°	35	34	34
24°	36	35	35

Si se observan estos resultados se ve que no pueden usarse Zn^{++} y Cu^{++} juntos, porque parece que su poder inhibidor se anula o por lo menos disminuye.

No obstante estas suposiciones se hicieron varios ensayos más usando Zn^{++} y Cu^{++} juntos.

El primer ensayo consiste en lo siguiente se hace una mezcla de los cuatro antibióticos: terramicina, acronicina, estreptomycinina y sintomicetina, de tal manera que las concentraciones finales de cada uno en la mezcla sea la misma que cuando estaban separados en los ensayos anteriores.

Se deja un tubo con esta mezcla al medio ambiente como testigo. A otros dos tubos semejantes al anterior se les agrega Zn^{++} en la concentración final de la sal de 1/10.000, uno se deja al medio ambiente y el otro en estufa a 37°C durante 24 horas. Con otros dos tubos se hace lo mismo pero con la sal de cobre. Al cabo de las 24 horas a los tubos con Zn^{++} se les/

agrega Cu^{++} y a los que contienen Cu^{++} se les agrega Zn^{++} y se los deja como anteriormente durante otras 24 horas.

Al cabo de ese tiempo se hacen los ensayos en placas de Petri usando la misma técnica que en la primera parte.

Se hacen dos placas con tres discos absorbentes cada una, el primero para el testigo, el segundo para la mezcla de los antibióticos con el Zn^{++} primero y el Cu^{++} después al medio ambiente, y el tercero para el tubo semejante al anterior pero mantenido en estufa.

En otras dos placas de Petri se hace lo mismo que anteriormente pero para los tubos a los que se les había agregado primero el Cu^{++} y luego el Zn^{++} .

Resultados en milímetros
antibióticos + 1° Cu^{++} 2° Zn^{++}

<u>Placa</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1	39	36	35
2	40	37	36

Antibióticos + 1° Zn^{++} + 2° Cu^{++}

<u>Placa</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1	38	35	34
2	37	35	34

Observando estos resultados se ve que el Zn^{++} y el Cu^{++} actuando sucesivamente durante 24 horas cada uno sobre la mezcla de los cuatro antibióticos demuestran una actividad mayor que actuando simultáneamente sobre cada uno por separado, pero la misma es menor que cuando lo hacen cada catión sobre el antibiótico que más inhibe. (pág. 23).

El segundo ensayo consiste en lo siguiente: Con el objeto de determinar si el anión acetato fuera el causante de la reducción de la actividad de la mezcla Cu^{++} y Zn^{++} , se emplea el cloruro de zinc, manteniendo la misma concentración del catión Zn^{++} .

Las diluciones se hacen igual que en los ensayos anteriores. —

Los resultados son los siguientes:

Antibióticos + Cu^{++} + Zn^{++} al cabo de 24 horas.

<u>Placa</u>	<u>Testigo</u>	<u>Ambiente</u>	<u>Estufa</u>
1	39	40	36
2	38	36	35

Antibióticos + 1° Cu^{++} + 2° Zn^{++} al cabo de 48 horas.

Testigo = 38 Ambiente = 35 Estufa = 33

Antibióticos + 1° Zn^{++} + 2° Cu^{++} al cabo de 48 horas.

Testigo = 38 Ambiente = 35 Estufa = 34

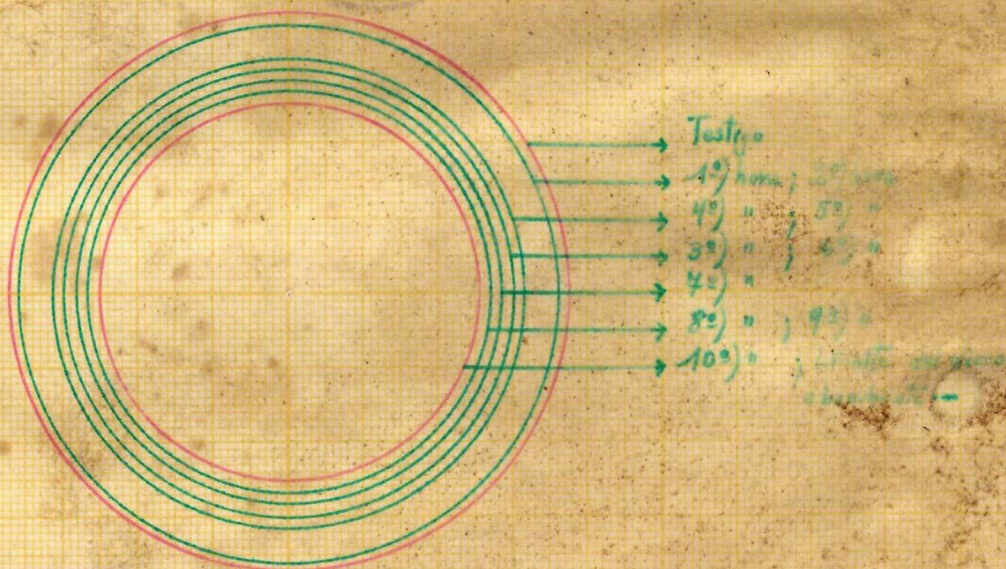
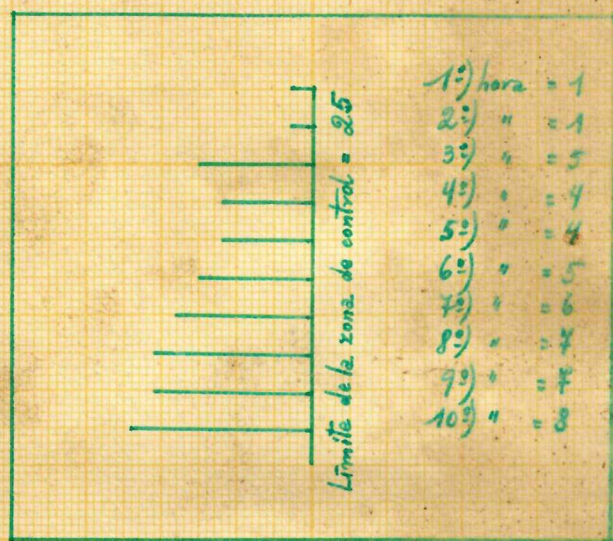
Los resultados son semejantes a los de la experiencia anterior, sin aventurarnos a considerar como único responsable al catión por no haber ensayado otros aniones.-

CONCLUSIONES

- 1°) La acromicina se inhibe totalmente con Cu^{++} en la concentración final de 1/30.000, por la permanencia en estufa a 37°C durante 17 horas.
- 2°) La terramicina se inhibe totalmente con el mismo catión anterior y en las mismas condiciones durante 13 horas.
- 3°) La estreptomicina se inhibe totalmente con Zn^{++} en la concentración final de 1/30.000, por la permanencia en estufa a 37°C durante 13 horas.
- 4°) La sintomicetina se inhibe totalmente con el mismo catión anterior y en las mismas condiciones durante 10 horas.

SintomicetinaGráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

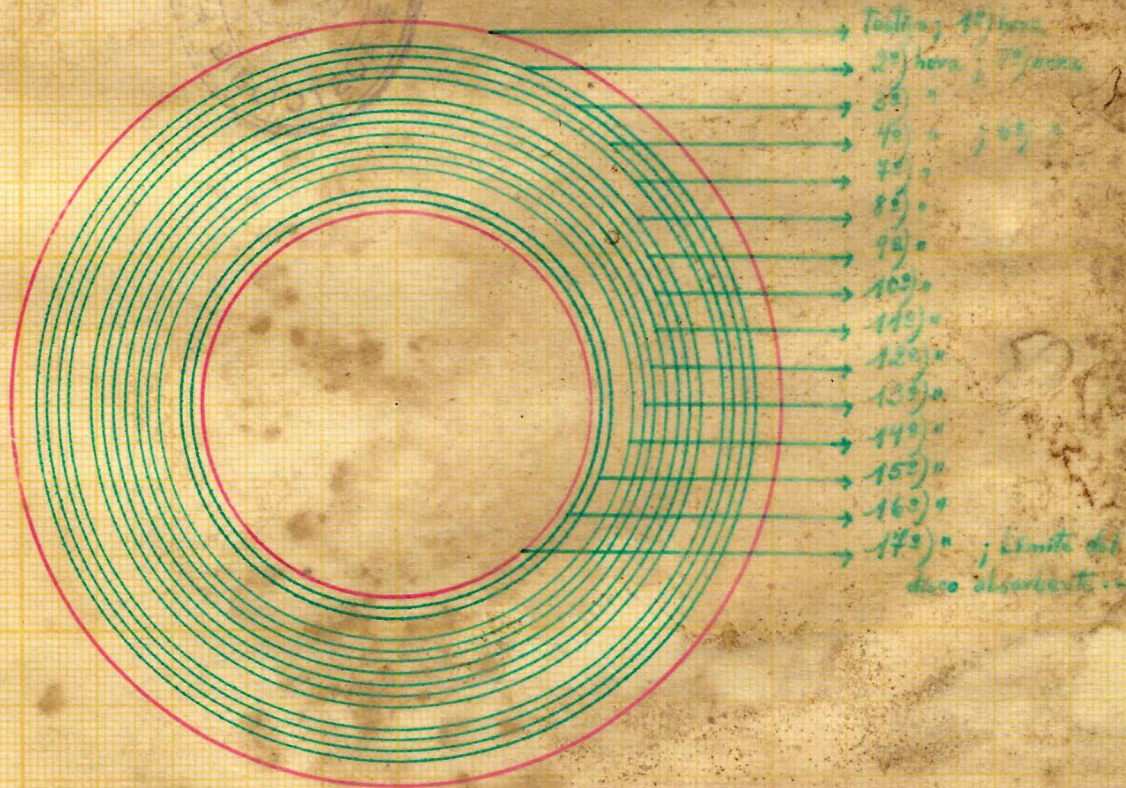
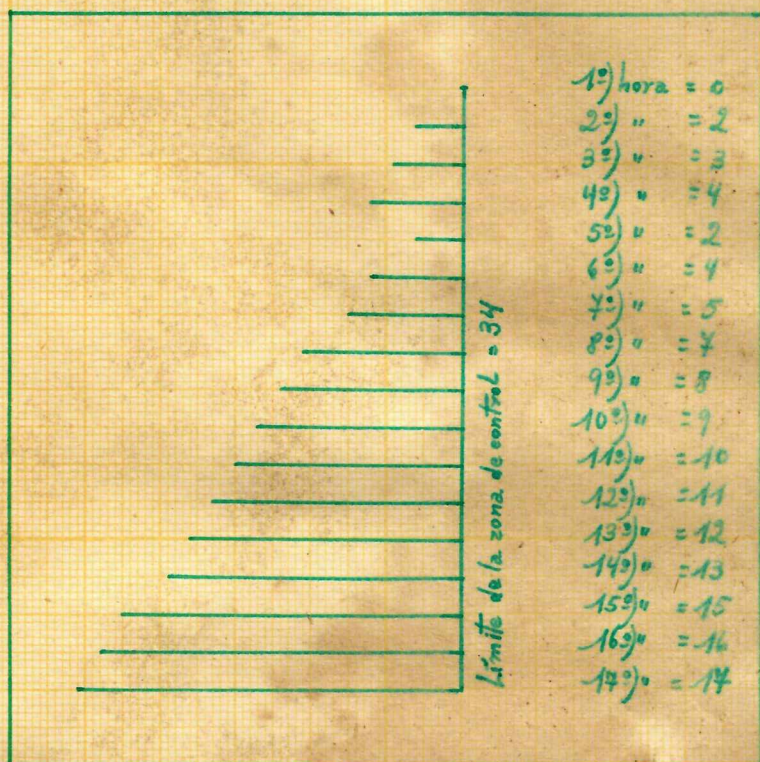
(Escala 3:1)



Acromicina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

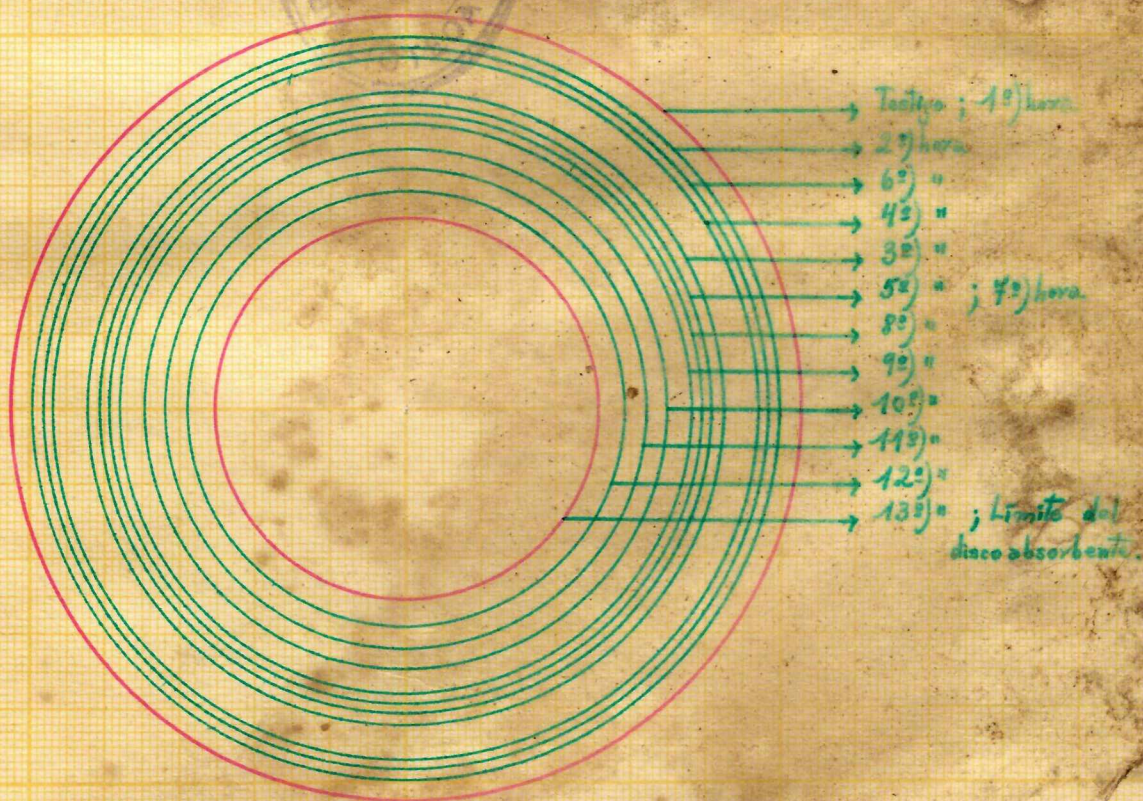
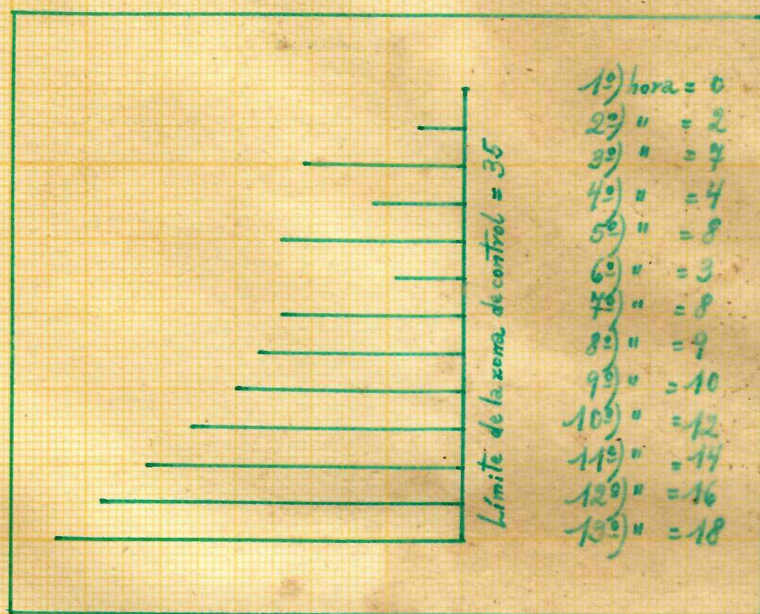
(Escala 3:1)



Terramicina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control..

(Escala 3:1)

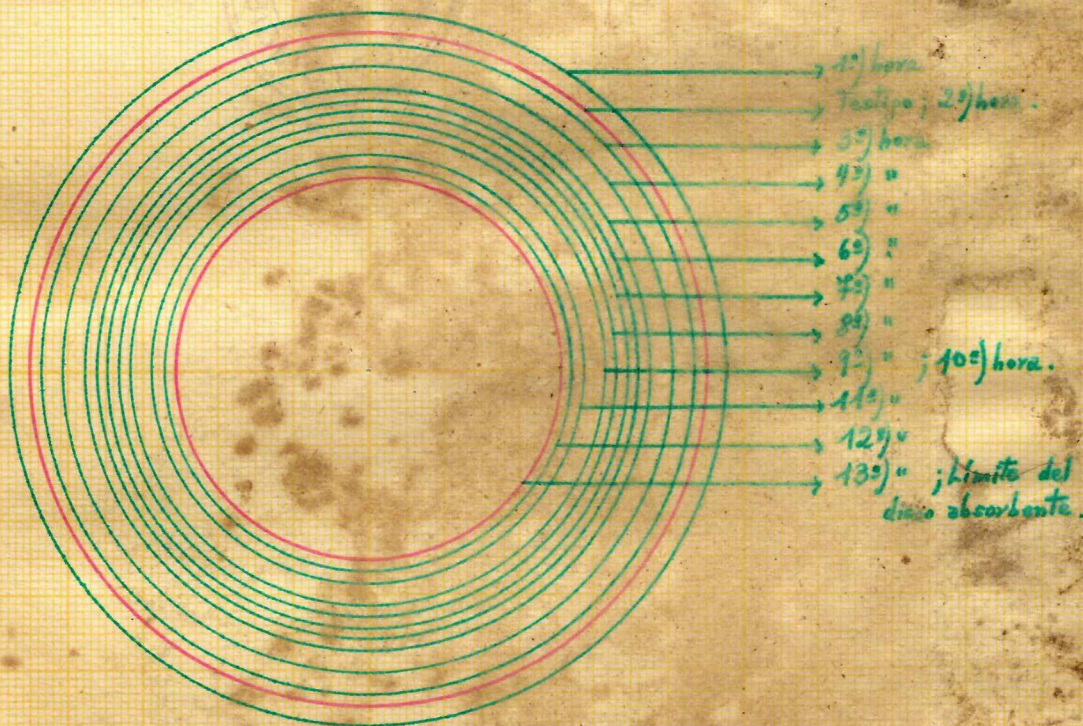
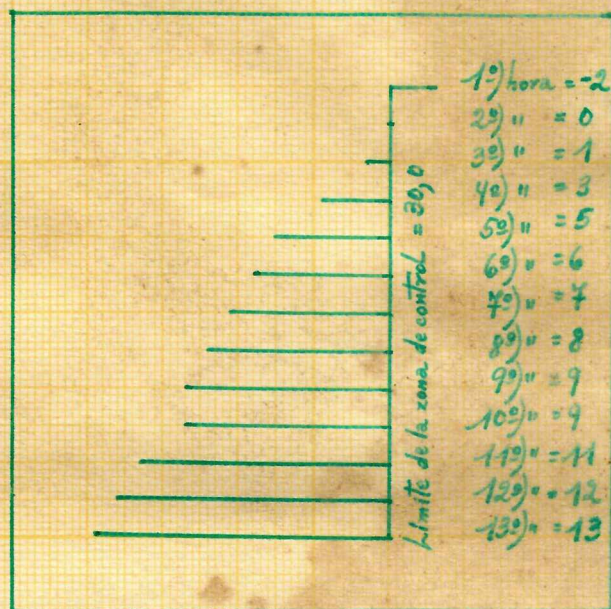




Estreptomina

Gráfico de las diferencias en mm. entre las zonas de inhibición y el control.

(Escala 3:1)



QUINTA PARTE

Para aplicar el resultado de las experiencias anteriores, a los hemocultivos, se preparan soluciones de las sales útiles con citrato de sodio, sobre las que se recoge la sangre asépticamente extraída, dicha mezcla se deja en estufa a 37°C el tiempo correspondiente y luego se efectúan las siembras en los medios de cultivo.

Las soluciones se preparan del siguiente modo:

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	-----0,5 gramos
Citrato de sodio. $2\text{H}_2\text{O}$	-----50 gramos
Agua destilada	-----1000 ml.

Esterilizar a 120°C por 30 minutos.

Solución de citrato de sodio-acetato de zinc:

$\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-----0,5 gramos
Citrato de sodio. $2\text{H}_2\text{O}$	-----50 gramos
Agua destilada	-----1000 ml.

Esterilizar a 120°C por 30 minutos.

En tubos de ensayo conteniendo 2 ml. de las soluciones anteriores, se añaden 8 ml. de sangre asépticamente extraída. Así la sangre permanece incoagulable y la concentración final de la sal de Cu o Zn es de 1/10.000.

Se deja esta mezcla en la estufa a 37°C durante 24 horas. Simultáneamente se hacen ensayos con la sangre del mismo paciente a la que se le agrega, primero la sal de Cu y después de 24 horas en estufa a 37°C, la sal de Zn y se deja otras 24 horas en las mismas condiciones. En otro tubo se hace el mismo ensayo a la inversa, es decir, primero la sal de Zn y luego la sal de Cu.

Después de estas operaciones se siembra en caldo, se incuba a 37°C durante un tiempo determinado y luego se procede a comprobar si el hemocultivo es positivo. Para ello se hacen siembras en tubos de agar en pico de flauta y frotis que se observan al microscopio.

RESULTADOS

Hospital	Sala	Cama	Médico	Paciente	Fecha	Temperatura	Sangre sin	Sangre +	Sangre +	Sangre + CuSO ₄	Sangre + Acet. Zn	Antibióticos recibidos	
					1956	axilar	tratamiento	CuSO ₄	Acet. Zn	+ Acet. Zn	+ CuSO ₄		
1	Muñiz	XXI	1	Cohén	G.C.deP.	27/IV	39°8	Staphilococo dorado	Staph. dorado	Staph. dorado	Staphilococo dorado	Staphilococo dorado	Penicilina
2	Muñiz	XI	19	Moreira	A.M.I.	21/V	38°6	Negativo.	Staph. dorado	Negat.	Staphilococo dorado	Negativo	Penicilina
3	Muñiz	X	25	Castiglioni	M.F.	31/V	36°5	Streptococo viridans	Strep. viridans	Strep. viridans	Streptococo viridans	Streptococo viridans	Penicilina
4	Muñiz	XI	19	Moreira	A.I.	6/VI	38°2	Staphilococo dorado	Staph. dorado	Staph. dorado	Staphilococo dorado	Staphilococo dorado	Penicilina
5	Muñiz	X	20	Castiglioni	D.A.	18/VI	38°6	Staphilococo dorado	Staph. dorado	Staph. dorado	Staphilococo dorado	Staphilococo dorado	Penicilina
6	Muñiz	XI	9	Moreira	H.A.	18/VI	37°9	Negativo	Diplococ. pneumon.	Negat.	Diplococo Pneumoniae	Negativo	Penicilina
7	Muñiz	XI	19	Moreira	A.C.	3/VII	37°9	Streptococo viridans	Strep. viridans	Strep. viridans	Streptococo viridans	Streptococo viridans	Penicilina
8	Muñiz	X	8	Castiglioni	J.E.	7/VII	38°4	Salmonella typhi	Salmonel. typhi	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Penicilina
9	Muñiz	XI	11	Moreira	H.L.T.	7/V	37°3	Negativo	Negat.	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Sintomicetina
10	Muñiz	X	5	Castiglioni	H.R.T.	13/VI	36°6	Negativo	Negat.	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Sintomicetina
11	Muñiz	XX	1	Cohén	M.N.	28/VI	37°3	Salmonella typhi	Salmonel. typhi	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Sintomicetina
12	Muñiz	XI	21	Moreira	J.E.L.	5/VII	38°4	Salmonella typhi	Salmonel. typhi	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Sintomicetina
13	Muñiz	XX	18	Cohén	E.E.	8/VII	37°4	Negativo	Negat.	Brucella abortus	Infección por esporulados	Infección por esporulados	Sintomicetina
14	Muñiz	X	12	Molmerli	M.R.	7/IV	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Acromicina
15	Muñiz	XXI	4	Cohén	E.F.deP.	24/IV	38°4	Negativo	Negat.	Brucella abortus	Negativo	Brucella abortus	Acromicina
16	Muñiz	XI	19	Moreira	E.R.	3/V	36°4	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Acromicina
17	Muñiz	X	8	Castiglioni	J.M.	30/IV	36°3	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Terramicina
18	Muñiz	XI	12	Moreira	F.S.	23/V	36°7	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Terramicina
19	Muñiz	XI	9	Moreira	H.A.	4/VI	38°6	Diplococo pneumoniae	Diplococ. pneumoniae	Diplococ. pneumoniae	Diplococo pneumoniae	Diplococo pneumoniae	Terramicina
20	Muñiz	XI	5	Castiglioni	C.A.	29/VI	37°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Terramicina

	Hospital	Sala	Cama	Médico	Paciente	Fecha 1956	Temperatura axilar	Sangre sin tratamiento	Sangre + CuSO ₄	Sangre + Acet. Zn	Sangre + CuSO ₄ + Acet. Zn	Sangre + Acet. Zn + CuSO ₄	Antibióticos recibidos
21	Muñiz	XI	4	Morei- ra	S.N.	7/VII	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Terramicina
22	Muñiz	I	19	Casti- glioni	V.B.	10/VII	37°	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Terramicina
23	Muñiz	I	7	Casti- glioni	G.A.	3/III	38°4	Negativo	Strep. viridans	Negat.	Streptococo viridans	Streptococo viridans	Penicilina y Estrep- tomicina
24	Muñiz	I	8	Casti- glioni	J.C.	22/III	38°3	Staphilococo dorado	Staph. dorado	Staph. dorado	Staphilococo dorado	Staphilococo dorado	Penicilina e Ilofti- cina
25	Muñiz	XI	19	Morei- ra	E.E.	4/V	37°8	Streptococo viridans	Strep. viridans	Negat.	Streptococo viridans	Streptococo viridans	Penicilina y Estrep- tomicina
26	Muñiz	I	22	Casti- glioni	J.S.	9/V	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Terra- micina
27	Muñiz	XI	22	Morei- ra	O.L.	16/V	38°4	Negativo	Strep. viridans	Negat.	Streptococo viridans	Streptococo viridans	Penicilina y Estrep- tomicina
28	Muñiz	XI	8	Kolre- lli	J.D.	28/V	36°6	Negativo	Strep. viridans	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
29	Muñiz	XXI	13	Cohén	L.F.	8/VI	36°6	Negativo	Strep. viridans	Negat.	Streptococo viridans	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
30	Muñiz	I	22	Casti- glioni	J.R.S.	19/VI	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Terrami- cina
31	Muñiz	I	22	Casti- glioni	J.R.S.	26/VI	38°9	Negativo	Negat.	Staph. dorado	Negativo	Negativo	Penicilina y Terra- micina
32	Muñiz	XI	21	Morei- ra	J.E.L.	29/VI	36°9	Negativo	Negat.	Negat.	Contaminación por esporulador	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
33	Muñiz	XXI	9	Cohén	E.E.	7/VII	36°9	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
34	Muñiz	XX	17	Cohén	N.deH.	10/VII	37°5	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
35	Muñiz	XI	18	Morei- ra	E.E.	10/VII	37°9	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Acromi- cina
36	Muñiz	I	4	Casti- glioni	H.T.	12/VII	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
37	Muñiz	XX	17	Cohén	N.deH.	13/VII	38°8	Negativo	Strep. viridans	Negat.	Streptococo viridans	Negativo	Penicilina y Estrep- tomicina
38	Muñiz	XX	5	Cohén	J.C.G.	21/III	38°5	Salmonella typhi	Salmonel. typhi	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Terramicina y Sinto- micetina
39	Muñiz	XX	1	Cohén	H.A.T.	20/IV	37°2	Salmonella typhi	Salmonel. typhi	Salmonel. typhi	Salmonella typhi	Salmonella typhi	Sintomicetina y Acro- micina
40	Muñiz	I	1	Casti- glioni	H.P.	4/V	36°3	Negativo	Negat.	Brucella abortus	Brucella abortus	Brucella abortus	Sintomicetina y Acro- micina
41	Muñiz	XX	13	Cohén	L.F.	27/V	36°5	Negativo	Negat.	Brucella meliten.	Brucella melitensis	Brucella melitensis	Sintomicetina y Acro- micina
42	Muñiz	XI	19	Morei- ra	A.H.I.	31/V	38°6	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Negativo	Sintomicetina y Acro- micina

Hospital	Sala	Cama	Médico	Paciente	Fecha	Temperatura	Sangre sin	Sangre +	Sangre +	Sangre + CuSO ₄	Sangre + Acet. Zn	Antibióticos recibidos
					1956	axilar	tratamiento	CuSO ₄	Acet. Zn	+ Acet. Zn	+ CuSO ₄	
43	Huñiz	I	26	Castiglioni	L.R.	1/VI	37°2	Brucella abortus	Negat.	Brucella abortus	Brucella abortus	Sintomicetina y Acromicina
44	Huñiz	II	11	Cohén	D.de Ch.	27/II	37°2	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Estreptomina y Terramicina
45	Huñiz	II	5	Morera	A.L.	24/IV	36°	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Estreptomina y Terramicina
46	Huñiz	II	22	Morera	O.L.	25/IV	39°	Staphilococo dorado	Staph. dorado	Staph. dorado	Staphilococo dorado	Penicilina, Estreptomina y Acromicina
47	Huñiz	III	19	Cohén	A.I.N.	11/VI	37°2	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Estreptomina y Terramicina
48	Huñiz	II	19	Morera	A.N.I.	19/VI	37°2	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Sintomicetina y Terramicina
49	Huñiz	II	10	Morera	J.de D.G.	29/VI	36°8	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Estreptomina y Terramicina
50	Huñiz	II	16	Morera	R.C.	6/VII	38°4	Negativo	Negat.	Negat.	Klebsiella pneumoniae	Penicilina, Sintomicetina y Terramicina
51	Huñiz	I	17	Castiglioni	M.K.	12/VII	38°2	Negativo	Negat.	Negat.	Negativo	Penicilina, Estreptomina y Terramicina

Todas las sangres analizadas provienen de pacientes internados en el Hospital Huñiz, con diagnóstico clínico de procesos infecciosos (septicemias, endocarditis, brucelosis, tifoideas, etc.).

No fueron tomados al azar, de ahí el número elevado de resultados positivos.-

Total de hemocultivos realizados = 51

Hemocultivos positivos con sangre sin tratamiento previo =
= 15

Hemocultivos positivos con sangre previamente tratada = 30

Hemocultivos negativos = 21

CONCLUSIONES

Observando el resultado obtenido en el estudio comparativo de los hemocultivos anteriores, se demuestra que el añadido previo de sulfato de cobre hidratado o acetato de zinc hidratado ya sea solos, o sucesivamente en una concentración final de 1/10.000, a las sangres que se emplean en los hemocultivos, procedentes de enfermos tratados con: penicilina, estreptomicina, sintomicetina, acromicina y terramicina, aislados o asociados dos o más antibióticos, aumenta la positividad de los resultados en un 50% .-

CONCLUSIONES

1°) Sintomicetina : Actúan disminuyendo su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus* los siguientes iones: Ag^+ , Hg^{++} , Hg^+ , Cu^{++} , Co^{++} , Mg^{++} , Cr^{+++} , Cd^{++} y con mayor intensidad que los precedentes el $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ y Zn^{++} .

Este antibiótico se inhibe totalmente con Zn^{++} en la concentración final de 1/30.000 por la permanencia en estufa a 37°C durante 10 horas.

2°) Acromicina : Ningún ión actúa favoreciendo su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus*, mientras que la disminuirían los iones Hg^+ , Hg^{++} , y con cierta intensidad el Cu^{++} , Mg^{++} y $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$.

Este antibiótico se inhibe totalmente con Cu^{++} en la concentración final de 1/30.000, por la permanencia en estufa a 37°C durante 17 horas.

3°) Terramicina : No favorecen su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus* el Cr^{+++} , Cd^{++} , Co^{++} , Zn^{++} , Ag^+ , Mg^{++} , Hg^{++} y la disminuiría el Hg^+ .

Este antibiótico se inhibe totalmente con Cu^{++} en la concentración final de 1/30.000, por la permanencia en estufa a 37°C durante 13 horas.

4°) Estreptomycin : Ningún ión favorece su acción bacteriostática sobre el *Staphilococcus Aureus*, mientras que la disminuye el Zn^{++} .

Este antibiótico se inhibe totalmente con Zn^{++} en la concentración final de 1/30.000 por la permanencia en estufa a 37°C durante 13 horas.

5°) La mezcla Zn^{++} + Cu^{++} tiene muy poco o ningún poder inhibidor sobre los antibióticos ensayados.

6°) Las soluciones diluidas de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ no tienen acción desfavorable sobre el crecimiento de las bacterias ensayadas.

7°) El añadido previo de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ o $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ya sea solos o sucesivamente en una concentración final de /

1/10.000, a las sangres que se emplean en los hemocultivos, procedentes de enfermos tratados con : penicilina, estreptomina, sintomicetina, acromicina y terramicina, aislados o asociados dos o más antibióticos, aumenta la positividad de los resultados en un 50%.-

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Galvan', with a horizontal line extending from the end of the signature.

FIM

-oOo-

BIBLIOGRAFIA

- 1) E. Abraham and E. Chain: "Purification and some physical and chemical properties of penicillin". *B.J. Exptl Path* (1942) vol. XXIII N°3-111-112.
- 2) Strait S.A.: "Penicillin activity enhanced by cobalt traces" *J. Am. Ph. Assoc.* 37 : 133: (1948).
- 3) Merrell J.: "Penicillin and other antibiotic agents" London 1945.
- 4) Kolmer J.A.: "Penicillin therapy" 3rd Ed. London. 1947.
- 5) Clarke H. Johnson J. and Robinson R.: "The chemistry of penicillin" Princeton 1949.
- 6) Fratt, Sufrenog y Strait: Aumento de la actividad antibiótica in vivo con cobalto. *Journal of Bacteriology*.
- 7) Coronato R.G. y Polichenko H. : 1951 *Rev. Asoc. La Plata*, junio.
- 8) Margni R. y Morales Villazón H. -1950/1953. *Rev. Ins. Malbrán* t. 15, n°2, 154.
- 9) Margni, R.: 1952. "Penicilinas y hemocultivos" *Rev. Asoc. Bioq. Arg.*
- 10) Margni, R.: 1953. *Rev. Asoc. Bioq. Arg.* año XVIII, n°86, 103.
- 11) Margni, R.: 1953. "Estudio comparativo de la valoración de penicilina en sangre por el *Lactobacillus Bulgaris* y los métodos de las diluciones, de los anillos de Oxford y de la penicilinasas". Tesis de Profesorado.
- 12) Margni, R. : 1950/53. *Rev. Ins. Malbrán*, t 15, n°4, 415.
- 13) Margni, R. : 1954. *Rev. Ins. Malbrán*, t 16, n°4, 237.

ACLARACIONES

1º) Página 10, línea 32 :

Cantidad de sal pesada = 10,135 gramos.

2º) Página 16, línea 7 :

Diferencia = 5,8

3º) Página 28, línea 5 :

Se eligieron estos iones basados en las conclusiones de la Primera Parte y en los trabajos anteriores, citados en la bibliografía, donde se encuentra que el Cu^{++} es inhibidor de la penicilina, antibiótico muy difundido en la terapéutica.

4º) Página 28, línea 18 :

Se siembra en cada tubo un ansa de platino de 4mm. de diámetro interno, de un cultivo en agar de la bacteria correspondiente.

5º) Página 36, líneas 6 - 7.

muestran algún poder inhibidor, el Cu^{++} sobre la acromicina y el Zn^{++} sobre la estreptomycina y sintomicetina.

6º) Página 57, cita N°6 :

Pratt, Dufrenoy y Strait : " Aumento de la actividad antibiótica in vivo con cobalto". *Journal of Bacteriology* , 55, 727 - 38 (1948).-

Cita N°7

Coronato R.G. y Polichenco M. : *Revista Farmacéutica. Asoc. Bñm. y Bioq. Arg. Año XCLV. Tomo 93 , Números 9, y 10, pág.: 251 (1951).*-

Cita N°9 : (Esta cita es número 8 en otros ejemplares).

Margni R.A. : "Penicilinas y hemocultivos". Año XLX ,

N° 96, pág.: 317 (1954).-

7º) Página 53

Comentario

Se obtuvieron los siguientes resultados de los hemocultivos pertenecientes a enfermos tratados con :

<i>Antibiótico</i>	<i>Total de hemo- cultivos reali- zados.</i>	<i>Positivos con sangre sin tra- tamiento previo.</i>	<i>Positivos con sangre previamente trstada.</i>	<i>Aumento de posi- tividad.</i>
<i>Penicilina</i>	8	6	8	16,7%
<i>Sintomicetina</i> <i>na</i>	5	2	5	62,5%
<i>Acromicina</i>	3	0	1	
<i>Terramicina</i>	6	1	1	0
<i>Penicilina y estreptomicina</i> <i>na</i>	10	1	6	150%
<i>Penicilina y terramicina</i>	3	0	1	
<i>Sintomiceti- na y acromi- cina.</i>	5	2	4	50%
<i>Penicilina y estreptomicina y terramicina</i>	5	0	0	0
<i>Penicilina, sintomicetina y terramicina.</i>	2	0	1	

No se sacan conclusiones parciales debido al reducido número de experiencias.